

Enxertos homólogos de esclera e dura-máter em olhos de coelhos: análise histopatológica comparativa

Homologous scleral and dura mater grafts in rabbit eyes: a comparative histopathological analysis

Davi Araf¹
Eurípedes da Mota Moura²
Consuelo Junqueira Rodrigues³
Luiz Arthur de Faria Figueiredo⁴

RESUMO

Objetivo: Avaliar a reação tecidual à implantação de enxertos homólogos de esclera e dura-máter. **Métodos:** Foram realizadas cirurgias experimentais em 41 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, sendo que dois coelhos foram selecionados, ao acaso, para serem doadores dos enxertos a serem utilizados no experimento. Trinta coelhos foram divididos em dois grupos: grupo D e grupo E, sendo submetidos à implantação dos tecidos homólogos e nove animais constituíram o grupo controle (grupo DE), submetidos à cirurgia sem enxertia. Os olhos foram enucleados e amostras foram colhidas em duas, seis e 12 semanas após o experimento, constituindo os subgrupos I, II e III. **Resultados:** Foi realizada análise histopatológica qualitativa, além de estudo semi-quantitativo comparativo da vascularização e infiltrado inflamatório na esclera e dura-máter transplantadas. Procedeu-se, também, a histomorfometria das medidas do lado dos enxertos com sistema analisador de imagens. Não houve diferença estatisticamente significativa comparando-se a vascularização, infiltrado inflamatório e medidas do lado, entre os subgrupos I de esclera em relação à dura-máter, assim como nos subgrupos II. Não foram comparados os subgrupos III, pois foram observados somente fragmentos dos enxertos de dura-máter. **Conclusões:** O enxerto de dura-máter mostrou intensa reabsorção e progressiva substituição por tecido conjuntivo frouxo. O enxerto de esclera mostrou discreta reabsorção na periferia com formação de membrana fibrosa mais evidente, integrando este à esclera do hospedeiro.

Descritores: Transplante homólogo; Esclera/transplante; Dura-máter/transplante; Esclera/anatomia & histologia; Dura-máter/anatomia & histologia; Tecido conjuntivo; Coelhos/cirurgia

Trabalho realizado na Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e no Laboratório de Anatomia Médico-Cirúrgica da Disciplina de Cirurgia Geral e Topografia Estrutural Humana do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP - São Paulo (SP) - Brasil.

Parte da tese de Doutorado defendida na USP em maio de 2004.

¹ Doutor em Oftalmologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP - São Paulo (SP) - Brasil.

² Assistente-Doutor e Chefe do Setor de Plástica Ocular da Clínica Oftalmológica da Faculdade de Medicina da USP - São Paulo (SP) - Brasil.

³ Professora Livre-docente do Departamento de Cirurgia da USP - São Paulo (SP) - Brasil.

⁴ Médico colaborador do Setor de Plástica Ocular do CEMA - São Paulo (SP) - Brasil.

Endereço para correspondência: Davi Araf. Al. Jaú, 1477 - Apto. 132C - São Paulo (SP) CEP 01420-002
E-mail: 1daraf@ibest.com.br

Recebido para publicação em 04.04.2005

Última versão recebida em 04.07.2007

Aprovação em 16.07.2007

INTRODUÇÃO

Enxertos homólogos, especificamente esclera e dura-máter, são comumente utilizados em oftalmologia. Ambos são tecidos conjuntivos densos constituídos, predominantemente, por fibras colágenas. As funções dos tecidos desse grupo são sustentação, preenchimento, defesa e nutrição.

As áreas de tecido conjuntivo destruídas por inflamação ou lesão traumática são preenchidas novamente pela proliferação do conjuntivo adjacente, pois esse tipo de tecido é dotado de grande capacidade de regeneração⁽¹⁾.

As principais indicações oftalmológicas para o uso de esclera ou dura-máter homólogas são: correção cirúrgica de defeitos esclerais⁽²⁻³⁾ (esclerite, traumas, processos infecciosos, betaterapia, mitomicina-c, tiotepa), enu-

cleação com implante primário⁽⁴⁻⁵⁾, implante secundário em cavidade anoftálmica⁽⁶⁾, recobrimento de implantes de drenagem no tratamento cirúrgico do glaucoma⁽⁷⁻⁸⁾, reparo de bolhas filtrantes com vazamento persistente⁽⁹⁻¹⁰⁾.

OBJETIVO

Analisar e comparar, qualitativa e semiquantitativamente, a reação tecidual à implantação de enxertos homólogos de esclera e dura-máter em olhos de coelhos, por meio do estudo histopatológico.

MÉTODOS

Foram utilizados 41 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, espécie *Oryctolagus cuniculus* com dois meses de idade, tratados de acordo com as normas recomendadas pelo Código Brasileiro de Experimentação Animal.

Do total de 41 coelhos, nove animais constituíram o grupo controle (grupo DE), que foram submetidos à cirurgia sem enxertia, em ambos olhos, com o intuito de observar a resposta inflamatória ao trauma cirúrgico e trinta coelhos foram divididos em dois grupos: grupo D e grupo E. Estes animais foram submetidos à enxertia de tecido homólogo; nos animais do grupo D, os olhos direitos receberam enxerto de esclera e os olhos esquerdos enxerto de dura-máter; no grupo E, os olhos direitos receberam enxerto de dura-máter e os olhos esquerdos de esclera.

Os grupos foram divididos em subgrupos I, II e III de acordo com o tempo de observação pós-operatório: Subgrupo I (sacrifício em duas semanas): cinco animais do grupo D, cinco animais do grupo E e três animais do grupo DE; Subgrupo II (sacrifício em seis semanas): cinco animais do grupo D, cinco animais do grupo E e três animais do grupo DE; Subgrupo III (sacrifício em 12 semanas): cinco animais do grupo D, cinco animais do grupo E e três animais do grupo DE.

Dois coelhos foram selecionados, ao acaso, para serem doadores dos enxertos a serem utilizados no experimento. A dura-máter foi obtida pela craniotomia e a esclera pela enucleação dos olhos destes animais sob condições adequadas de assepsia, antissepsia e anestesia geral. Após estes procedimentos para obtenção dos enxertos os animais foram sacrificados com aplicação endovenosa de 5 ml de cloreto de potássio (KCI 19,1%, 2,56 mEq/ml).

Os enxertos foram submetidos à limpeza com água corrente para remoção de resíduos e sangue, lavados com solução de cloreto de sódio a 0,9% (soro fisiológico) com gentamicina 80 mg/ml. Em seguida, a dura-máter e a esclera foram colocadas separadamente em frascos estéreis, imersas em glicerina a 98%, permanecendo no mínimo por duas semanas em temperatura ambiente até a utilização do material. No momento da cirurgia o tecido foi colocado em soro fisiológico durante 10 minutos, posteriormente imerso em uma solução contendo uma ampola de gentamicina 80 mg/ml diluída em soro fisiológico

e novamente submerso em soro fisiológico para reidratação e restauração das propriedades originais do material.

Os coelhos foram anestesiados e submetidos à cirurgia sob condições adequadas de assepsia e antissepsia. Após a colocação de blefarostato foi realizada peritomia límbica entre as inserções dos músculos reto superior e reto lateral; a conjuntiva e a cápsula de Tenon foram então divulsionadas com preparo do espaço subconjuntival e subtenoniano, permitindo a exposição da esclera.

Nos grupos D e E foram posicionados sobre a esclera os enxertos previamente preparados e recortados no tamanho de 4x4 mm e os animais do grupo DE não receberam enxertia sendo o procedimento finalizado com sutura da conjuntiva com fio de náilon monofilamentar 10-0. Após a cirurgia instilou-se colírio de tobramicina de 4/4 horas nos olhos operados, no período diurno, por sete dias.

Os coelhos foram observados no pós-operatório por duas, seis ou 12 semanas, correspondendo respectivamente aos subgrupos I, II e III. Foi realizada avaliação dos olhos para observar eventuais intercorrências que pudessem comprometer o exame histopatológico. Os animais foram então submetidos a enucleação bilateral sob anestesia geral e após este procedimento os animais foram sacrificados. Os olhos enucleados foram colocados isoladamente em recipientes com formol a 10% identificados e encaminhados para exame histopatológico.

Os olhos foram examinados macroscopicamente para identificação do local do enxerto. Quando identificados, segmentos representativos englobando a área do enxerto foram retirados para análise. Quando não foi possível identificar macroscopicamente o local exato da enxertia, vários segmentos representativos foram retirados junto à área mais provável da cirurgia. Nos animais do grupo controle, a área representada foi a área de sutura conjuntival, pois estes animais não receberam enxertia. Os segmentos de tecido colhidos seguiram para rotina histológica, sendo desidratados em serie crescente de álcoois, clareados em xilol, embebidos e emblocados em parafina. Dos blocos de parafina foram obtidos cortes histológicos de 5 µm de espessura. Os cortes foram submetidos à coloração com hematoxilina-eosina (HE) e picrossirius. As lamínas coroadas pelo método de HE foram analisadas para avaliação das seguintes características histológicas, em cada fase do experimento: vascularização e infiltrado inflamatório. Estas características foram avaliadas de modo semiquantitativo na região do enxerto nos grupos D e E.

Nos cortes histológicos submetidos à coloração de picrossirius e analisados com microscópio de polarização foram realizadas a avaliação qualitativa do estroma conjuntival adjacente ao enxerto em relação aos tipos de colágeno tipo I (refringência avermelhada) e tipo III (refringência esverdeada).

As medidas do lado dos enxertos foram feitas em micrômetros, correspondendo à distância entre as duas extremidades, nos cortes histológicos corados pelo hematoxilina-eosina. Utilizou-se sistema analisador de imagens Kontron Eletronik 300. A estação de trabalho consistiu de microscópio de luz

binocular, uma videocâmera colorida, placa digitalizadora de imagens, um microcomputador com processador de 133 MHz.

A utilização desses programas permitiu a análise, tratamento, interpretação, obtenção de valores de mensuração das estruturas com todas as variáveis e a distribuição automática dos dados, gerados pela estação de análise de imagens, para planilhas eletrônicas e processadores de texto, de maneira automática.

Para comparar as variáveis vasos e infiltrado inflamatório foram realizados testes de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney. A comparação do lado dos enxertos foi realizada pela Análise de Variância seguida por comparações múltiplas de Bonferroni, além do Teste *t* de Student. Nos testes estatísticos fixou-se em 0,05 ou 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade, ou seja, $p < 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

Nos olhos dos coelhos submetidos ao procedimento cirúrgico não foram observados sinais de infecção, deiscência de sutura conjuntival e extrusão dos enxertos (grupos D e E). Todos os casos apresentaram discreta hiperemia e edema conjuntival no período pós-operatório inicial, com resolução em até duas semanas após a cirurgia.

Avaliação histológica

1- Olhos submetidos à enxertia de esclera (grupos D e E)

Subgrupo I

Hematoxilina-eosina (HE) (Figura 1 e Tabela 1).

Picosirius: observa-se estroma conjuntival constituído por fibras colágenas finas (colágeno tipo III).

Subgrupo II

Hematoxilina-eosina (HE) (Tabela 2).



Figura 1 - Corte histológico da área do enxerto de esclera com duas semanas (D₂). Observar edema conjuntival ao redor do enxerto (A). (HE, 100X).

Picosirius: observa-se estroma conjuntival constituído por colágeno frouxo (colágeno tipo III), áreas focais de estroma conjuntival mostram fibras colágenas tipo I. (Figura 2).

Subgrupo III

Hematoxilina-eosina (HE) (Tabela 3).

Picosirius: observa-se estroma conjuntival constituído por colágeno frouxo (colágeno tipo III).

Tabela 1. Análise semiquantitativa da vascularização e infiltrado inflamatório - esclera duas semanas

Coelho	Vascularização	Infiltrado inflamatório
D1	+++	++
D7	++	+
E16	+++	++
E19	++	+
E20	++	++
E25	+++	++

0= ausência de achado/1-raros vasos ou raras células; (+)/2-discreto; (++)/3-moderado; (+++)/4-intenso(++++)

Tabela 2. Análise semiquantitativa da vascularização e infiltrado inflamatório - esclera seis semanas

Coelho	Vascularização	Infiltrado inflamatório
D2	++	+
D13	+++	+
D15	++	+
E26	++	+
E28	++	+
E29	+++	+
E30	++	+

0= ausência de achado/1-raros vasos ou raras células; (+)/2-discreto; (++)/3-moderado; (+++)/4-intenso(++++)

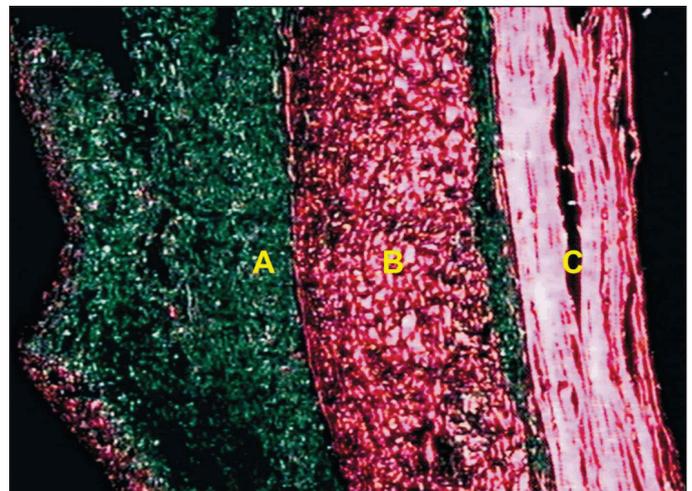


Figura 2 - Corte histológico da área do enxerto de esclera com seis semanas (D₆). Observar colágeno tipo III com refringência esverdeada no estroma conjuntival (A). Enxerto de esclera (B). Esclera do hospedeiro (C). (Picosirius sob luz polarizada, 100X).

2 - Olhos submetidos à enxertia de dura-máter (grupos D e E)

Subgrupo I

Hematoxilina-eosina (HE) - (Tabela 4).

Picosirius: observa-se estroma conjuntival constituído por fibras colágenas finas (colágeno tipo III) e fibras colágenas maduras tipo I.

Subgrupo II

Hematoxilina-eosina (HE) (Tabela 5, Figura 3).

Picosirius: observa-se estroma conjuntival ao redor do enxerto constituído por colágeno frouxo (colágeno tipo III), áreas focais de estroma conjuntival mostram fibras colágenas tipo I.

Tabela 3. Análise semiquantitativa da vascularização e infiltrado inflamatório - esclera doze semanas

Coelho	Vascularização	Infiltrado inflamatório
D3	++	+
D8	+	0
D9	+	+
E18	+	+
E23	++	+
E24	+	0

0= ausência de achado/1-raros vasos ou raras células; (+)/2-discreto; (++)/3-moderado; (+++)/4-intenso(++++)

Tabela 4 - Análise semiquantitativa da vascularização e infiltrado inflamatório - dura-máter duas semanas

Coelho	Vascularização	Infiltrado inflamatório
D4	++	+
D7	++	+
D10	+	+
D11	++	++
E19	+++	+
E20	++	+
E21	+++	++

0= ausência de achado/1-raros vasos ou raras células; (+)/2-discreto; (++)/3-moderado; (+++)/4-intenso(++++)

Tabela 5. Análise semiquantitativa da vascularização e infiltrado inflamatório - dura-máter seis semanas

Coelho	Vascularização	Infiltrado inflamatório
D5	+++	0
D13	+++	+
D14	++	+
D15	++	+
E26	++	0
E27	+++	++
E28	++	+
E29	+++	+
E30	+++	+

0= ausência de achado/1-raros vasos ou raras células; (+)/2-discreto; (++)/3-moderado; (+++)/4-intenso(++++)

Subgrupo III

Hematoxilina-eosina (HE) (Tabela 6).

Picosirius: observa-se estroma conjuntival ao redor do enxerto constituído por colágeno frouxo (Tipo III) e raras pequenas fibras colágenas maduras (Tipo I). (Figura 4).

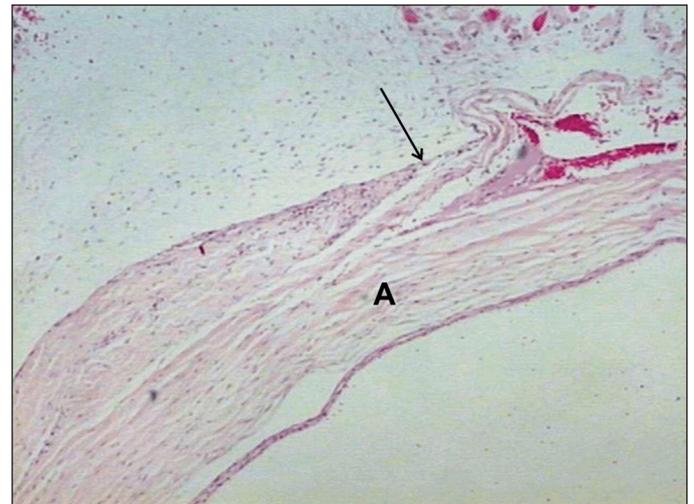


Figura 3 - Corte histológico da área do enxerto da dura-máter com seis semanas (E₃₀). Observar tênue membrana fibrosa (seta) integrando o enxerto à esclera do hospedeiro (A). (HE, 100X).

Tabela 6. Análise semiquantitativa da vascularização e infiltrado inflamatório - dura-máter doze semanas

Coelho	Vascularização	Infiltrado inflamatório
E17	+	+
E18	+	+

0= ausência de achado/1-raros vasos ou raras células; (+)/2-discreto; (++)/3-moderado; (+++)/4-intenso(++++)

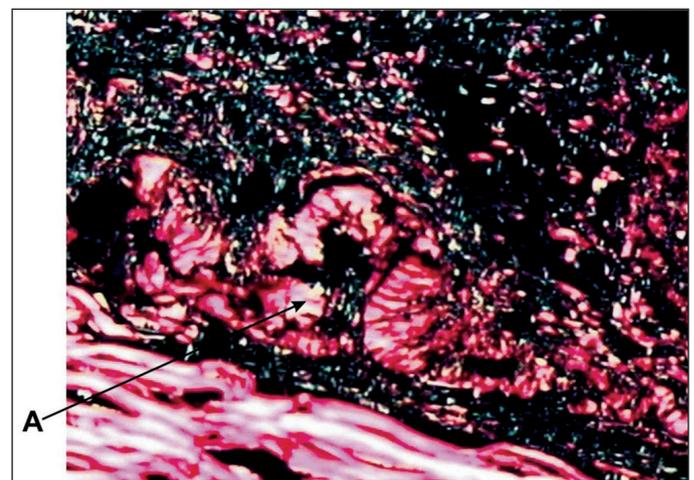


Figura 4 - Corte histológico da área do enxerto da dura-máter com 12 semanas (E₁₂). Observar estroma conjuntival constituído de colágeno tipo III (refringência esverdeada). Enxerto de dura-máter (A) (Picosirius sob luz polarizada, 100X).

Resultados da análise comparativa

a - Vascularização

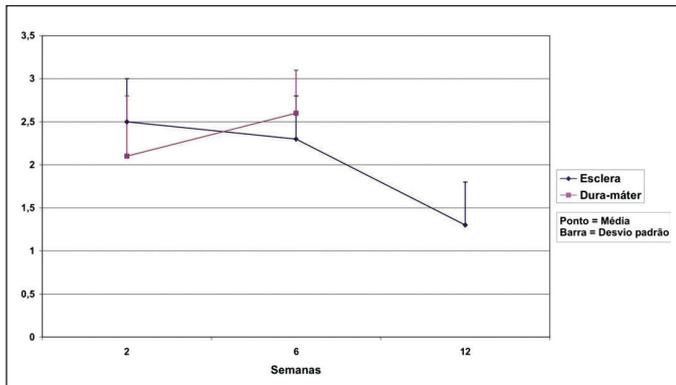


Gráfico 1 - Apresentação das médias dos valores da vascularização dos enxertos de esclera e dura-máter (perfis médios)

b - Infiltrado inflamatório

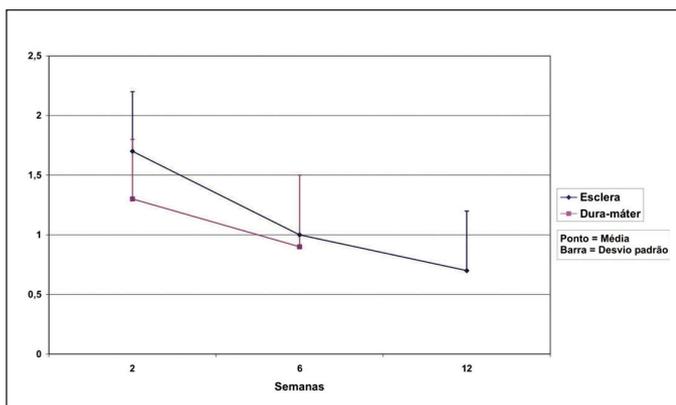


Gráfico 2 - Apresentação das médias dos valores do infiltrado inflamatório dos enxertos de esclera e dura-máter (perfis médios)

Medidas do lado dos enxertos

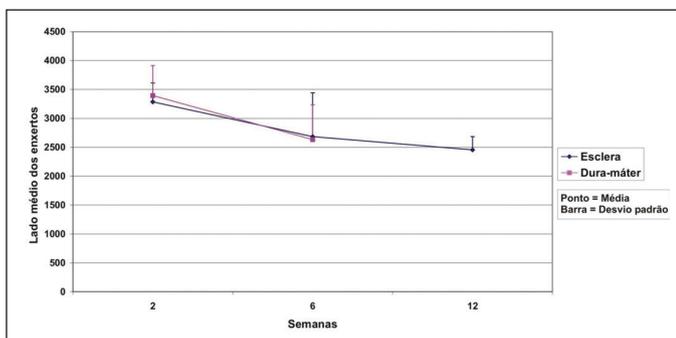


Gráfico 3 - Apresentação das médias dos valores das medidas do lado dos enxertos de esclera e dura-máter (perfis médios)

DISCUSSÃO

A utilização de enxertos homólogos de esclera e dura-máter é um procedimento consagrado em oftalmologia.

As principais vantagens do emprego da esclera são: facilidade de obtenção, maleabilidade, composição da estrutura de colágeno, proporcionando bom suporte para o bulbo ocular. A ausência de componentes celulares ativos evita reações imunológicas⁽¹¹⁾.

As vantagens do uso da dura-máter em cirurgia oftalmológica incluem: resistência, rigidez e biocompatibilidade. Além disso, não induz o desenvolvimento de reação imunológica e apresenta boa integração tecidual⁽⁴⁾.

O modelo animal utilizado nas cirurgias experimentais foi o coelho por ser dócil, fácil de manusear, possuir bulbo ocular de bom tamanho, além de baixo custo em relação a outros animais⁽¹²⁾.

A esclera do coelho apresenta características anatômicas e histológicas que se assemelham à esclera humana, fator primordial no estudo em questão⁽¹³⁾.

Não foi produzido defeito escleral, uma vez que se optou por observar a reação tecidual do enxerto em contato com a esclera receptora. Optou-se pela ausência de suturas para fixação do material, limitando os fatores responsáveis por processo inflamatório⁽¹⁴⁾.

Entretanto, a ausência de sutura fixando os tecidos implantados na esclera do hospedeiro contribui para a presença de dobras na dura-máter e migração dos enxertos de esclera e dura-máter em alguns olhos. A migração descrita não permitiu a avaliação de todos os olhos submetidos à enxertia, apesar de terem sido realizados vários cortes histológicos.

O tamanho do enxerto foi padronizado em 4x4 mm, considerando-se tamanho adequado para o estudo, com facilidade de manipulação intra-operatória e visualização pós-operatória.

Neste estudo a conjuntiva foi suturada sobre o enxerto com fio de náilon monofilamentar 10-0, por ser de pequena espessura e baixa reatividade, além de coloração escura permitindo a visualização pós-operatória.

Após a cirurgia foi utilizado colírio de tobramicina, antibiótico de amplo espectro, por sete dias, visando a ausência de infecção no período pós-operatório. Não foi associado corticóide tópico para não mascarar o processo inflamatório.

Optou-se por realizar o sacrifício dos animais duas, seis e 12 semanas após a cirurgia experimental com o intuito de evitar a fase inflamatória aguda, relacionada ao procedimento cirúrgico, e observar fenômenos de integração ou rejeição dos enxertos.

No presente estudo observou-se presença de infiltrado com predominância de células mononucleares e raros polimorfonucleares, correspondendo a processo inflamatório crônico.

O tempo de observação pós-operatório de 12 semanas foi superior ao encontrado na literatura em trabalhos semelhantes^(11,15).

A coloração dupla pela hematoxilina-eosina é a mais uti-

lizada na rotina em histologia. Os corantes permitem boa visualização dos vários componentes dos tecidos, mas geralmente não fornecem dados sobre sua natureza química.

Portanto, a utilização do corante de picrosírius e análise dos cortes histológicos sob microscopia de luz polarizada permitiram a diferenciação do colágeno novo (tipo III), de refração esverdeada, do antigo ou maduro (tipo I), de refração avermelhada.

Em relação à análise comparativa da vascularização observada nos enxertos, não houve diferença estatisticamente significativa entre a vascularização dos enxertos com duas semanas de esclera comparativamente à dura-máter, assim como na vascularização dos enxertos de esclera e dura-máter com seis semanas. Não foram comparados os subgrupos de 12 semanas, pois os enxertos de dura-máter foram observados em apenas dois olhos deste subgrupo, sendo que a maior parte foi reabsorvida.

Em relação à análise do infiltrado, também não houve diferença estatisticamente significativa entre os enxertos com duas semanas de esclera comparativamente à dura-máter. O subgrupo II não mostrou diferença entre esclera e dura-máter. Também não foi comparado o infiltrado inflamatório dos subgrupos III.

Pela análise estatística comparando-se os resultados das medidas do lado dos enxertos de esclera em relação à dura-máter, não houve diferença significativa entre os subgrupos duas e seis semanas, não foi realizada análise estatística comparativa entre os subgrupos 12 semanas, pois só foram observados fragmentos dos enxertos de dura-máter. Sendo assim, a maior diferença entre os olhos enxertados com esclera e dura-máter, com relação às medidas dos lados, seria percebida a partir de seis semanas de observação pós-operatória.

Com relação ao grupo controle deste estudo foi apresentada resposta inflamatória menos intensa e duradoura, comparativamente aos olhos submetidos à enxertia. Demonstra-se, desta maneira, a maior reação inflamatória gerada pela presença dos enxertos.

No presente estudo pudemos observar, na análise dos olhos dos coelhos enxertados com dura-máter e tempo de observação de 12 semanas, que houve uma intensa reabsorção do tecido implantado com progressiva substituição por tecido conjuntivo frouxo do hospedeiro. Esta análise histológica foi facilitada pelo método de picrosírius associado ao uso do microscópio de luz polarizada, identificando o colágeno tipo I (maduro) e tipo III (novo).

Em contrapartida, o enxerto de esclera mostrou discreta reabsorção, somente na periferia, com formação de membrana fibrosa mais evidente, integrando este à esclera do hospedeiro. Portanto, pode-se supor que, se o tempo de observação pós-operatório fosse superior a 12 semanas, a reação tecidual do enxerto de esclera teria sido semelhante à dura-máter.

A comparação da reação tecidual dos enxertos homólogos utilizados em oftalmologia pode contribuir na escolha do tecido, dependendo da indicação clínica.

CONCLUSÕES

Pela análise histopatológica comparativa entre os enxertos de esclera e dura-máter, concluiu-se que:

- Não houve diferença com relação à vascularização, nos subgrupos duas e seis semanas.
- Não houve diferença com relação ao infiltrado inflamatório, nos subgrupos duas e seis semanas.
- Não houve diferença com relação às medidas do lado dos enxertos, nos subgrupos duas e seis semanas.
- O enxerto de dura-máter mostrou maior reabsorção que o enxerto de esclera, no subgrupo 12 semanas, foi total ou parcialmente substituído por tecido conjuntivo frouxo hospedeiro.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate tissue reaction to implantation of homologous scleral and dura mater grafts. **Methods:** Experimental surgeries were performed on 41 albino New Zealand rabbits; two rabbits were selected at random to be graft donors. Thirty rabbits were divided into two groups: group D and group E, receiving grafts of homologous tissues. The remaining nine animals comprised the control group (DE) and were submitted to surgery but with no graft. The eyes were enucleated and samples collected two, six and 12 weeks after the experiment, comprising subgroups I, II and III. **Results:** A qualitative histopathological analysis was performed together with a comparative semi-quantitative study on vascularization and inflammatory infiltrate in the transplanted sclera and dura mater. Histomorphometry was conducted based on measurements of the grafts with an image analyzing system. There was no statistically significant difference when comparing vascularization, inflammatory infiltrate and measurements between subgroup I in relation to sclera and dura mater, nor in subgroup II. Subgroup III was not compared, since only fragments of dura mater grafts were considered. **Conclusions:** The dura mater graft presented intense absorption and progressive replacement of loose connective tissue. And the scleral graft showed discreet absorption in the periphery with formation of a more evident fibrous membrane, integrating the graft into the host sclera.

Keywords: Transplantation, homologous; Sclera/transplantation; Dura mater/transplantation; Sclera/anatomy & histology; Dura mater/anatomy & histology; Connective tissue; Rabbits/surgery

REFERÊNCIAS

1. Junqueira LC, Carneiro J. Tecidos conjuntivos. In: Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1985. p.87-117.
2. Enzenauer RW, Enzenauer RJ, Reddy VB, Cornell FM, West S. Treatment of

- scleromalacia perforans with dura mater grafting. *Ophthalmic Surg.* 1992;23(12):829-32.
3. Nguyen QD, Foster CS. Scleral patch graft in the management of necrotizing scleritis. *Int Ophthalmol Clin.* 1999;39(1):109-31.
 4. Forno EA, Moura EM, Kikuta HS. Uso da dura-máter homóloga conservada em cirurgia plástica ocular: banco de dura-máter. *Rev Bras Oftalmol.* 1990;49(2):27-32.
 5. Shields CL, Shields JA, De Potter P. Hydroxyapatite orbital implant after enucleation. Experience with initial 100 consecutive cases. *Arch Ophthalmol.* 1992;110(3):333-8.
 6. DeBacker CM, Dutton JJ, Proia AD, Holck DE, Stone T. Bovine pericardium versus homologous sclera as wrapping materials for hydroxyapatite ocular implants: na animal study. *Ophthal Plast.Reconstr Surg.* 1999;15(5):312-6.
 7. Freedman J. Scleral patch grafts with Molteno setons. *Ophthalmic Surg.* 1987;18(7):532-4.
 8. Breslin CW, Katz JJ, Kaufman HE. Surgical management of necrotizing scleritis. *Arch Ophthalmol.* 1977;95(11):2038-40.
 9. Melamed S, Cahane M, Gutman I, Blumenthal M. Postoperative complications after Molteno implant surgery. *Am J Ophthalmol.* 1991;111(3):319-22.
 10. Mattox C. Therapeutics and techniques and glaucoma care updates: management of the leaking bleb. *J Glaucoma.* 1995;4:370-4.
 11. Pezzutti S, Holzchuh N, Alves MR, Holzchuh MP, Holzchuh R. Politetrafluoroetileno e esclera humana no tratamento cirúrgico de perfuração escleral em coelhos. *Arq Bras Oftalmol.* 2001;64(6):563-7.
 12. Miller MH, Grierson I, Unger WI, Hitchings RA. Wound healing in an animal model of glaucoma fistulizing surgery in the rabbit. *Ophthalmic Surg.* 1989;20(5):350-7.
 13. Prince JH. *The rabbit in eye research.* Springfield: Charles C. Thomas; 1964.
 14. Campbell JB, Bassett CA, Robertson JW. Clinical use of freeze-dried human dura mater. *J Neurosurg.* 1958;15(2):207-14.
 15. Barros PS, Laus JL, Morales A, Ferreira AL, Safatle AM. Reparação experimental de lesões lamelares da esclera de cães com pericárdio xenólogo conservado. *Arq Bras Oftalmol.* 1996;59(5):462-6.
-